

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2003 年 11 月 20 日 (20.11.2003)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 03/096008 A1

(51) 国際特許分類⁷: G01N 30/00, 31/20,
33/53, 33/48, 37/00, 35/02

(21) 国際出願番号: PCT/JP02/04458

(22) 国際出願日: 2002 年 5 月 8 日 (08.05.2002)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 株式会社日立ハイテクノロジーズ (HITACHI HIGH-TECHNOLOGIES CORPORATION) [JP/JP]; 〒105-8717 東京都港区西新橋一丁目 2 4 番 1 4 号 Tokyo (JP).

(71) 出願人 および
(72) 発明者: 宮原 裕二 (MIYAHARA, Yuji) [JP/JP]; 〒312-8504 茨城県ひたちなか市市毛 8 8 2 番地 株式会社日立ハイテクノロジーズ設計・製造統括本部 那珂事業所内 Ibaraki (JP).

(72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 長岡 嘉浩 (NAGAOKA, Yoshihiro) [JP/JP]; 〒300-0013 茨城県土浦市

神立町 5 0 2 番地 株式会社日立製作所機械研究所内 Ibaraki (JP). 渡部 成夫 (WATANABE, Naruo) [JP/JP]; 〒300-0013 茨城県土浦市神立町 5 0 2 番地 株式会社日立製作所機械研究所内 Ibaraki (JP). 竹中 啓 (TAKE-NAKA, Kei) [JP/JP]; 〒300-0013 茨城県土浦市神立町 5 0 2 番地 株式会社日立製作所機械研究所内 Ibaraki (JP). 大橋 智樹 (OHASHI, Tomoki) [JP/JP]; 〒300-0013 茨城県土浦市神立町 5 0 2 番地 株式会社日立製作所機械研究所内 Ibaraki (JP).

(74) 代理人: 平木 祐輔 (HIRAKI, Yusuke); 〒105-0001 東京都港区虎ノ門一丁目 17 番 1 号 虎ノ門 5 森ビル 3F Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): CN, IN, JP, KR, US.

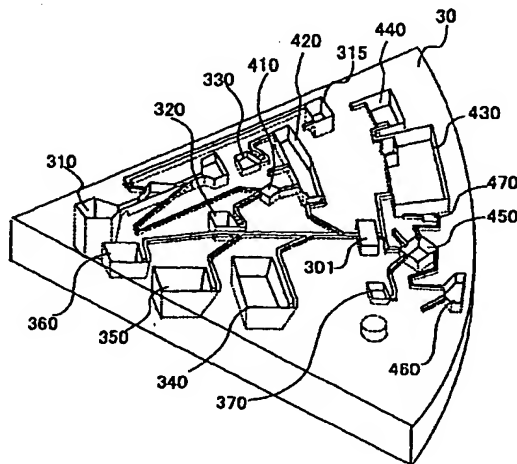
(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: CHEMICAL ANALYZER AND GENE DIAGNOSING APPARATUS

(54) 発明の名称: 化学分析装置及び遺伝子診断装置



(57) Abstract: A chemical analyzer for analyzing specific chemical substances such as nucleic acid extracted from a specimen containing a plurality of chemical substances capable of eliminating fluid remaining therein by a valve for controlling the flow of the fluid and preventing reagent in a previous process from contaminating a next process, wherein a constant amount of the fluid is held and the fluid is fed by a centrifugal force without installing the valve controlling the flow of the fluid in a reagent flow passage, holes are opened by a drilling machine (13) in order in the covers of ventilation holes (272, 273, 274) communicating with a detection container (450) in an analysis disk (2) and waste containers (460) and (470), and the analysis disk (2) is rotated to achieve the supply and the holding of fixed amount of a specimen.

WO 03/096008 A1

[続葉有]



(57) 要約:

本発明は、複数の化学物質を含む試料から核酸等の特定の化学物質を抽出し分析する化学分析装置において、バルブによる液残りがなく、前工程の試薬が次工程への汚染となるのを防ぐことを目的とする。

本発明は該目的を達成するため、液体の流動を制御するバルブを試薬流路に設けずに遠心力で液体の定量保持および供給をする。分析ディスク 2 内の検出容器 450 および廃棄容器 460、470 に連通する通気孔 272、273、274 の蓋に穿孔機 13 で順次孔を開けた後、分析ディスク 2 を回転させることで試料の供給および定量保持を実現する。

明 細 書

化学分析装置及び遺伝子診断装置

技術分野

本発明は、血液や尿等の生体試料から核酸等の特定の化学物質を抽出し、抽出した核酸等の化学物質に検出のための試薬を混合して分析する化学分析装置に関する。また、該化学分析装置を有する遺伝子診断装置に関する。

背景技術

複数の化学物質を含む試料から核酸等の特定の化学物質を抽出し分析する化学分析装置としては、特表2001-527220号公報に、一体型流体操作カートリッジが記載されている。この装置では、一体型カートリッジ内部に溶解液や洗浄液や溶離液等の試薬、及び核酸を捕獲する捕獲構成部品を備え、核酸を含む試料をカートリッジ内部に注入した後、前記試料と溶離液を混合させて前記捕獲構成部品に通過させ、さらに捕獲構成部品に洗浄液を通過させ、さらに捕獲構成部品に溶離液を通過させ、捕獲構成部品を通過した後の溶離液をPCR試薬に接触させ反応チャンバへと流している。

上記第一の従来技術で利用している核酸抽出方法としては、特表平8-501321号公報に、クロマトグラフィーによる核酸混合物の精製分離法が記載されている。この方法では、核酸混合液を高濃度の塩を含む吸着水溶液からシリカゲル等の無機基体上に吸着させた後、洗浄液で洗浄し、低濃度の塩を含む溶液で核酸を溶出している。シリカゲルは円筒状の中空カラム内に固定されており、分離すべき核酸混合物の溶液を注ぎ、吸引または遠心分離で溶液を無機基体に通している。

また、WO00/78455号公報に、増幅を用いた検査のための微小構造体及び方法が記載されている。この装置では、前記特表平8-501321号公報記載の核酸混合物の精製分離法を用いて、DNA混合

液を無機基体としてのガラスフィルタに通過させた後、洗浄液及び溶離液を通過させてDNAのみを回収している。ガラスフィルタは回転可能な構造体に設けてあり、洗浄液や溶離液等の試薬は同じ構造体内の各試薬リザーバに保持してある。各試薬は構造体が回転することにより発生する遠心力で流動し、各試薬リザーバとガラスフィルタを結ぶ微細流路に設けたバルブを開くことにより試薬がガラスフィルタを通過する。

また、特表2001-502793号公報に、化学分析用の装置及び方法が記載されている。この装置では、ディスク形状部材内部にチャンバ、流路、リザーバ、分析用セルを設け、遠心チャンバ内に血液サンプルを注入後血球と血清を遠心分離し、血清を試薬が表面にコーティングされたビーズを有する反応チャンバに血清のみを流し、その後洗浄のための溶液を反応チャンバに流し、さらに溶出溶液を反応チャンバに流して、前記溶出溶液を反応チャンバから分析用セルに移動させている。

発明の開示

第一の従来技術である特表2001-527220号公報記載の一体型流体操作カートリッジでは、各試薬をポンプで送液する際、各試薬チャンバと捕獲構成部品を結ぶ微細流路に設けたバルブ等を開くことで試薬が捕獲構成部品を通過する。さらに捕獲構成部品を通過した試薬のうち洗浄液は廃液チャンバへ、溶離液は反応チャンバへと流れるように捕獲構成部品と各チャンバとの間の流路に設けたバルブ等で切り替えている。ポンプで複数の試薬を送液する場合流路壁に試薬が残り、特にバルブ等の障害物があると液が残りやすく、一旦液が残ると流動することがないため、別の試薬との合流部で汚染する可能性がある。また、捕獲構成部品を通過した洗浄液と溶離液とをバルブ等で切り替えて別々のチャンバに流動させる場合、先に廃液チャンバへと流動した洗浄液が反応チャンバへ切り替えるバルブ等の上流流路を汚染するため、溶離液に洗浄液が混入する恐れがある。

第二の従来技術である特表平8-501321号公報記載の精製分離

法では、シリカゲルを固定した円筒状の中空カラムに核酸混合液を注ぎ、遠心力を利用してシリカゲルに核酸混合液を通過させた後複数の試薬を通過させることで核酸のみを回収しているが、中空カラムへの各試薬の注入方法及びシリカゲルを通過した洗浄液と溶離液の回収方法については開示されていない。

第三の従来技術であるWO 00 / 7 8 4 5 5号公報記載の構造体では、各試薬リザーバとガラスフィルタを結ぶ微細流路に設けたバルブを開くことで各試薬は遠心力の作用で流動しガラスフィルタを通過する。バルブには加熱することで溶けるワックス等を使用しているが、通過した試薬がバルブ部に残り回収したDNAを汚染する可能性がある。すなわちDNA混合液や洗浄液がバルブ部に残り、遠心力で溶離液をガラスフィルタに通過させている工程で、バルブ部に残ったDNA混合液や洗浄液が流れ込む可能性がある。

第四の従来技術である特表2001-502793号公報記載の装置では、血清分離の際にはディスク形状部材をディスク形状部材外部の中心軸に関して回転（公転）させ、血清を反応チャンバに導く際にはディスク形状部材内の中心軸に関して回転（自転）させるため、公転と自転それぞれの回転機構が必要となり、装置が複雑である。さらに洗浄液及び溶出溶液を反応チャンバに導く際には、ディスク形状部材内部に設けたシリンダ内でピストンを駆動する構造にしており、装置が複雑である。

本発明の目的は、上記課題のうち少なくともいずれか一つを解決することにより、液体試料中の特定の化学物質を高精度に分析する安価な化学分析装置を提供することにある。また、これら化学分析装置を有する遺伝子診断装置を提供することにある。

上記課題は、特定の化学物質を捕捉部から溶離した後の溶離液を保持する溶離液保持部と溶離液保持部に連通して溶離液の一部を廃棄する溶離液廃棄部を設け、前記溶離液保持部と溶離液廃棄部を連通する連通流路において、溶離液保持部との接続部を溶離液廃棄部との接続部より回転中心側に設けることにより解決できる。

或いは捕捉部を通過後の溶離液を保持する溶離液保持部に、溶離液の一部を流出させるための溶離液流出口と溶離液以外の液を廃棄するための廃棄口を設け、前記溶離液流出口を廃棄口より内周側に設けることにより解決できる。

或いは特定の化学物質を捕捉部から溶離した後の溶離液を保持する溶離液保持部と溶離液保持部から溶離液以外の液を廃棄する廃液廃棄流路と溶離液保持部から溶離液の一部を廃棄する溶離液廃棄流路を設け、溶離液保持部と溶離液廃棄流路との接続部を廃液廃棄流路の最内周部より外周側に設けることにより解決できる。

或いは特定の化学物質を捕捉部から溶離した後の溶離液を保持する溶離液保持部と溶離液保持部に検出用の試薬を供給する検出試薬供給流路を設け、溶離液保持部と検出試薬供給流路との接続部を廃液廃棄流路の最内周部より内周側に設けることにより解決できる。

或いは捕捉部を通過後の試料液と溶離液とを保持する保持部を別々に設け、試料液が捕捉部を通過後に溶離液保持部の通気孔を開けて、溶離液を捕捉部に流過させることにより解決できる。

或いは特定の化学物質を捕捉部から溶離した後の溶離液を保持する溶離液保持部と、溶離液保持部に検出用の試薬を供給する検出試薬容器を設け、検出試薬の流動を制御するための検出試薬制御部を、検出試薬を溶離液保持部に供給するための検出試薬流出口よりも上流側に設け、溶離液保持部から溶離液の一部を廃棄する溶離液廃棄流路を設け、溶離液の一部を溶離液廃棄流路から廃棄した後に検出試薬を溶離液保持部内に流動させることにより解決できる。

特に試薬制御部を開放可能な通気孔と開孔機構にすればよい。

或いは特に試薬制御部を試薬分注器にすればよい。

或いは捕捉部を通過後の溶離液を保持する溶離液保持部と溶離液保持部の液を流出する流出流路を設け、溶離液保持部と流出流路の接続部である流出流路入り口を流出流路のもう一端である流出流路出口より内周側に設け、回転構造体の回転中に前記捕捉部を流過した試薬が流出流路

を流動後、回転構造体が一度停止後再度回転し、さらに再度停止した後溶離液を前記捕捉部を流過させることにより解決できる。

更に、上記化学分析装置を有する遺伝子診断装置により、上記課題は解決される。

図面の簡単な説明

第1図は、本発明による遺伝子分析装置の全体構成図である。第2図は、本発明による分析ディスクの構成図である。第3図は、本発明による流路部の構成図である。第4図は、本発明による分析動作の手順を示す説明図である。第5図は、本発明による分析の各操作及び該各操作と各図面との対応を示す説明図である。第6図は、本発明による血清分離操作時の流路部の動作説明図である。第7図は、本発明による血清分離操作時の流路部の動作説明図である。第8図は、本発明による血清分離操作時の流路部の動作説明図である。第9図は、本発明による血清と溶解液の混合・結合操作時の流路部の動作説明図である。第10図は、本発明による血清と溶解液の混合・反応操作時の流路部の動作説明図である。第11図は、本発明による結合操作時の流路部の動作説明図である。第12図は、本発明による洗浄操作時の流路部の動作説明図である。第13図は、本発明による洗浄操作時の流路部の動作説明図である。第14図は、本発明による洗浄操作時の流路部の動作説明図である。第15図は、本発明による溶離液流動操作時の流路部の動作説明図である。第16図は、本発明による溶離及び溶離液定量保持操作時の流路部の動作説明図である。第17図は、本発明による増幅操作時の流路部の動作説明図である。第18図Aは、本発明による各試薬容器の試薬注入口及び通気孔の断面図であり、第18図Bは、本発明による各試薬容器の試薬注入口及び通気孔の断面図である。第19図は、本発明による位置決め機構の回路図である。第20図は、本発明による位置決め動作のタイミングチャートである。第21図は、本発明による他の遺伝子分析装置の全体構成図である。第22図は、本発明による分析動作の他の手順を示

す説明図である。

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明の実施例を説明する。

(実施例 1)

図 1～図 17 を参照して、本発明による化学分析装置の一実施例を説明する。

図 1 は本発明による遺伝子分析装置の全体構成図である。遺伝子分析装置 1 は、モータ 11 により回転可能に支持された保持ディスク 12 と、保持ディスク 12 上の突起 121 により位置決めされた複数の扇形の分析ディスク 2 と、液体の流動を制御するための穿孔機 13 と、加温及び検出のための 2 台の光学装置即ち上部光学装置 14 及び下部光学装置 15、後述(図 19)する位置決めセンサ 16 を備えている。保持ディスク 12 は、下部光学装置 15 用の保持ディスク光学窓 122 を備えている。

図 2 は分析ディスク 2 の構成図である。分析ディスク 2 は上カバー 20 と流路部 30 を接合して構成している。上カバー 20 は、試料注入口 210、複数の試薬注入口 220、230、240、250、260、270、及び複数の通気孔 212、222、223、および複数の蓋付通気孔 221、231、241、251、261、271、272、273、274 を備えている。流路部 30 は、位置決め孔 710 および後述の容器および流路等を備えている。分析ディスク 2 は、保持ディスク 12 の突起 121 に対して位置決め孔 710 が嵌め合うことで位置決めされる。

流路部 30 の構成図を図 3 に示す。図 3 に示す流路部の実施例は、全血から血清を分離後、血清中のウイルスに含まれる核酸を抽出し、核酸を抽出した抽出液を定量後検出試薬を添加して分析する流路を構成している。

以下全血を試料として用いた場合のウイルス核酸の抽出及び分析動作

を説明する。抽出及び分析動作の流れを図4及び図5に示し、流路部30内での流動状態を図6～17に段階を追って示す。

操作者は分析ディスク2の上カバー20より各試薬注入口220、230、240、250、260、270を通して試薬を各試薬容器320、330、340、350、360、370に分注し、蓋をする。分析数に応じて必要な数の分析ディスクに試薬を注入後、保持ディスク12に分析ディスクを装着する。

次に真空採血管等で採血した全血を試料注入口210より試料容器310に注入する(図6)。

全血501を注入後、モータ11で保持ディスク12を回転する。試料容器310に注入された全血は、保持ディスク12の回転により発生する遠心力の作用で外周側に流動し、血球貯蔵容器311および血清定量容器312を満たし、余分な全血はオーバーフロー細管流路313からオーバーフロー太管流路314を通過して全血廃棄容器315へ流れる(図7)。全血廃棄容器315には全血廃棄用通气流路318が設けてあり、さらに上カバー20の全血廃棄用通气流路318最内周部に対応する位置に全血廃棄用通気孔212を設けているため、空気が自由に入り可能である。オーバーフロー細管流路313からオーバーフロー太管流路314にかけての接続部は急拡大しておりかつオーバーフロー細管流路313の最内周側(半径位置601)にあるため、全血はオーバーフロー細管流路313を満たした状態で前記接続部で切れる。したがって半径位置601より内周側に液は存在できないので、血清定量容器312の液面も半径位置601になる。また、血清定量容器312から分岐している血清毛细管316にも全血が流れ込み、ここでも全血の最内周部は半径位置601になる。

さらに回転を続けると全血501は血球と血清に分離し(遠心分離)、血球502は外周側の血球貯蔵容器311へ移動し、血清定量容器内は血清503だけになる(図8)。

上記一連の血清分離動作時に、上カバー20にある各試薬容器の通気

孔 2 2 1、2 3 1、2 4 1、2 5 1、2 6 1、2 7 1 は蓋をしていて空気が入らない状態になっている。遠心力により各試薬は試薬容器外周側より流出しようとするが、容器内に空気が入らないため試薬容器内の圧力が低下し、遠心力と釣り合って試薬は流出することができない。しかし回転数が増加し遠心力が大きくなると、試薬容器内の圧力は徐々に低下し、試薬の飽和蒸気圧以下になると気泡が発生する。そこで、図 6 に示すように、各試薬容器外周側から流出する試薬を一旦内周側に戻すような流路構造（戻り流路 3 2 2、3 3 2、3 4 2、3 5 2、3 6 2、3 7 2）とすることで、試薬容器内の圧力低下を抑制し、気泡の発生を防ぐ。このように血清分離動作時には、各試薬は試薬容器に保持されたまま流動しない。

所定の時間回転させ血清分離動作が終了すると分析ディスク 2 は停止し、血清定量容器 3 1 2 内の血清 5 0 3 の一部が血清毛細管 3 1 6 内部に表面張力により毛細管流動し、混合部 4 1 0 と血清毛細管 3 1 6 との接続部である混合部入り口 4 1 1 まで流動し、血清毛細管 3 1 6 を満たす。

以下穿孔機 1 3 が各試薬容器上部の通気孔の蓋にひとつづつ穴をあけてはモータ 1 1 を回転し、各試薬を遠心力で流動させる。図 1 8 A の分析ディスク断面に示すように、上カバー 2 0 には各試薬容器上部に試薬注入口（2 4 0、2 5 0、2 6 0）および通気孔（2 4 1、2 5 1、2 6 1）があり、通気孔には蓋がしてある。穿孔機 1 3 はこの蓋に穴を開けることで試薬容器内に空気が入る状態にする。さらに図 1 8 B に示すように、フィルタ 2 4 2、2 5 2、2 6 2 を通気孔と試薬容器の間に設けることで、穿孔機 1 3 の汚染を防止できる。

以下に血清分離終了後の動作を示す。

溶解液容器 3 2 0 には血清中のウイルスの膜蛋白を溶解するための溶解液 5 2 1 が分注してある。穿孔機 1 3 が溶解液通気孔 2 2 1 の蓋に穴をあけた後、モータ 1 1 を回転させると、遠心力の作用により溶解液 5 2 1 は溶解液容器 3 2 0 より溶解液戻り流路 3 2 2 を経て、混合部 4 1

0に流れ込む。また、血清定量容器312内の血清の最内周側（血清分離終了時には半径位置601）が混合部入り口411（半径位置602）より内周側にあるため、遠心力によるヘッド差で血清定量容器312および血清毛細管316内の血清は、混合部入り口411から混合部410に流れ込む（図9）。混合部410は血清と溶解液を混合する部材で構成してある。例えば樹脂やガラス、紙等の多孔性フィルタや繊維、或いはエッチングや機械加工等で製作したシリコンや金属等の突起物などである。

血清と溶解液は混合部410で混合し反応容器420へ流れ込む（図10）。反応容器420には反応容器用通気流路423が設けてあり、さらに上カバー20の反応容器用通気流路423最内周部に対応する位置に反応容器用通気孔222を設けているため、空気が自由に出入り可能である。血清定量容器312から血清毛細管316への分岐部317（半径位置603）は混合部入り口411（半径位置602）より内周側にあるため、サイホン効果により血清毛細管316内の血清はすべて混合部410に流れ出る。一方血清定量容器312の血清は遠心力で血清毛細管316に流れ込むから、血清定量容器312内での血清の液面が分岐部317（半径位置603）に到達するまで血清は混合部410に流出し続け、血清の液面が分岐部317に到達した時点で、血清毛細管316に空気が混入し空になって流動は終了する。すなわち血清分離終了時点での半径位置601から半径位置603までの血清定量容器312、オーバーフロー細管流路313および血清毛細管流路316内の血清が混合部410に流出し、溶解液と混合する。

このように、半径位置601から半径位置603までの血清定量容器312、オーバーフロー細管流路313および血清毛細管流路316を所定の容積（必要血清量）になるよう設計すれば、全血に対する血清の比率が全血試料ごとに異なっても、分析に使用する血清を定量することができる。例えば、血球貯蔵容器の容積を250マイクロリットルとし、必要血清量を200マイクロリットルに設計したとき、全血を500マ

マイクロリットル分注すれば、全血廃棄容器 3 1 5 へ 5 0 マイクロリットルの全血がオーバーフローし、残りの 4 5 0 マイクロリットルが血清と血球に分離し、分離した血清のうち 2 0 0 マイクロリットルが混合部 4 1 0 へ流出する。すなわち 4 5 0 マイクロリットルの全血に対して、血清の量が 2 0 0 マイクロリットル以上の全血試料については本発明のデバイスで分析が可能になる。血清の比率が小さい全血に対しては、血球貯蔵容器の容積を大きくし全血試料を多くすればよい。

反応容器 4 2 0 では混合した血清と溶解液が反応する。血清と溶解液の混合液が反応容器 4 2 0 に流動した後の反応容器 4 2 0 内の液面は、反応液流路 4 2 1 の最内周部（半径位置 6 0 4）よりも外周側にあるため、反応液流路最内周部を越えることができず、回転中は混合液が反応容器 4 2 0 に保持される。

溶解液は、血清中のウイルスや細菌等からその膜を溶解して核酸を溶出させる働きをするが、さらに本発明で言う捕捉部である核酸結部位材 3 0 1 への核酸の吸着を促進させる。このような試薬としては、DNA の溶出及び吸着には塩酸グアニジン、RNA にはグアニジンチオシアネートを用いればよく、核酸結部位材としては石英やガラスの多孔質材や繊維フィルタ等を用いればよい。

血清と溶解液が反応容器 4 2 0 に保持された後、モータ 1 1 を停止し、穿孔機 1 3 で追加液容器 3 3 0 に空気を供給するための追加液通気孔 2 3 1 の蓋に穴をあけ、再びモータ 1 1 を回転させると、遠心力の作用により追加液 5 3 1 は追加液容器 3 3 0 より追加液戻り流路 3 3 2 を経て、反応容器 4 2 0 に流れ込み、反応容器内の混合液の液面を内周側に移動させる（図 1 1）。液面が反応液流路 4 2 1 の最内周部（半径位置 6 0 4）に達すると、混合液は反応液流路の最内周部を越えて流れ出し、合流流路 4 2 2 を経て、核酸結部位材 3 0 1 へ流れ込む。追加液としては、たとえば上述の溶解液を使用すればよい。

尚、試料によっては混合液の壁面に対する濡れ性がよく、停止状態では反応液流路 4 2 1 内を毛細管現象で混合液が流動する場合もあり、こ

のときは追加液 5 3 1 を必要としない。

このようにして溶解液と血清の混合液が核酸結合物材を通過すると、核酸が核酸結合物材に吸着し、液は廃液流路 4 3 1 を経て廃液貯蔵容器 4 3 0 へと流れ込む。溶離液流路 4 5 1 の下流側には複数の容器と流路があり、後の工程で各容器に空気を供給するための穴を穿孔するが、混合液が核酸結合物材 3 0 1 を通過する際には密閉されており、液は溶離液流路 4 5 1 には流れない。一方廃液貯蔵容器 4 3 0 は圧力調整用流路 4 3 2 を経て圧力調整容器 4 4 0 に連通している。圧力調整容器 4 4 0 には圧力調整用通气流路 4 4 1 が設けてあり、さらに上カバー 2 0 の圧力調整用通气流路 4 4 1 最内周部に対応する位置に圧力調整用通気孔 2 2 3 を設けているため、空気が自由に出入り可能である。

次にモータ 1 1 を停止し、穿孔機 1 3 で第一洗浄液容器 3 4 0 に空気を供給するための第一洗浄液通気孔 2 4 1 の蓋に穴をあけた後、再びモータ 1 1 を回転させると、遠心力の作用により第一洗浄液 5 4 1 は第一洗浄液容器 3 4 0 より第一洗浄液戻り流路 3 4 2 を経て、核酸結合物材 3 0 1 に流れ込み、核酸結合物材 3 0 1 に付着した蛋白等の不要成分を洗浄する（図 1 2）。第一洗浄液としては、たとえば上述の溶解液或いは溶解液の塩濃度を低減した液を使用すればよい。

洗浄後の廃液は、上述の混合液同様、廃液流路 4 3 1 を経て廃液貯蔵容器 4 3 0 へと流れ込む。

同様の洗浄動作を複数回繰り返す。たとえば第一洗浄液に引き続き、モータ停止の状態で、穿孔機 1 3 で第二洗浄液容器 3 5 0 に空気を供給するための第二洗浄液通気孔 2 4 1 の蓋に穴をあけ再びモータ 1 1 を回転させ、核酸結合物材 3 0 1 に付着した塩等の不要成分を洗浄する。第二洗浄液としては、たとえばエタノール或いはエタノール水溶液を用いればよい。

必要に応じてさらに同様の洗浄を繰り返してもよい。

このような洗浄工程において、各洗浄液は廃液流路 4 3 1 を経て廃液貯蔵容器 4 3 0 へと流れるが、溶離液流路 4 5 1 の一部、特に廃液流路

との分岐部付近が汚染される可能性がある。後述のように、核酸結合部材 301 から溶離した核酸は溶離液流路 451 を通過するため、溶離液流路 451 も洗浄することが望ましい。

図 6 ～ 17 の実施例 1 では、二種類の洗浄液すなわち第一洗浄液 541 および第二洗浄液 551 で洗浄しており、第二の洗浄液で溶離液流路 451 を洗浄する場合について述べる。

まず図 13 に第一の洗浄液がすべて廃液流路 431 を通過した状態を示す。廃液は廃液貯蔵容器 430 から圧力調整用流路 432 を経て圧力調整流路 440 へ溢れている。一旦モータを停止後、穿孔機 13 で第二洗浄液容器 350 に空気を供給するための第二洗浄液通気孔 241 の蓋に穴をあけ、さらに検出容器 450 を外部と連通させるための検出容器通気孔 272 および最終洗浄液廃棄容器 460 を外部と連通させるための最終洗浄液用通気孔 273 の蓋に穴をあける。

再びモータ 11 を回転させると、遠心力の作用により第二洗浄液 551 は第二洗浄液容器 350 より第二洗浄液戻り流路 352 を経て、核酸結合部材 301 に流れ込み、核酸結合部材 301 に付着した第一洗浄液を洗浄する（図 14）。核酸結合部材 301 を通過した第二洗浄液は、検出容器 450 および廃液貯蔵容器 430 の両方に流れ込もうとするが、廃液貯蔵容器 430 の方は圧力調整用流路 432 に液が流入する際のヘッド差（ h_1 ）に加え、圧力調整用流路 432 から圧力調整容器 440 に空気を押し出すためのヘッド差（ h_2 ）が必要となり、第二洗浄液は流入することができない。一方検出容器 450 には前述の穿孔動作にて通気孔をあけているため、ほとんど抵抗なく流れる。すなわち核酸結合部材 301 を通過した第二洗浄液は、溶離液流路 451 を経て本発明で言う溶離液保持部である検出容器 450 に流れ込む。このとき、混合液や第一洗浄液等で汚染された、廃液流路 431 との分岐部付近が洗浄される。

第二洗浄液が検出容器 450 に流れ込み、液面が本発明で言う廃液廃棄流路である洗浄液廃棄流路 452 の最内周部（半径位置 605）に達

すると、最終洗浄液廃棄容器 4 6 0 へと流れ出す。洗浄液廃棄流路 4 5 2 の検出容器との接続部（半径位置 6 0 6）は最内周部（半径位置 6 0 5）より外周側にあるため、一旦最終洗浄液廃棄容器 4 6 0 へ流れ出すと、サイホン効果により検出容器 4 5 0 内の液をすべて排出しようとする。しかし、排出が完了した後で、核酸結合部材 3 0 1 等に残っていた微量の液が流れ込んだ場合には、検出容器 4 5 0 内に液が残る。この場合は、一度回転を停止し、検出容器 4 5 0 内に残った液が毛細管流動で洗浄液廃棄流路 4 5 2 を満たした後再び回転すれば、再度サイホン効果により検出容器 4 5 0 に残った液を最終洗浄液廃棄容器 4 6 0 へ排出する。したがって、最終洗浄液に関しては、通気孔の穿孔の後回転と停止を二度繰り返すことが望ましい。

このように核酸結合部材 3 0 1 を洗浄し核酸のみが吸着している状態にした後、核酸の溶離工程に移行する。

すなわちモータ停止の状態、穿孔機 1 3 で溶離液容器 3 6 0 に空気を供給するための溶離液通気孔 2 6 1 の蓋に穴をあけ、さらに本発明で言う溶離液廃棄部である溶離液廃棄容器 4 7 0 を外部と連通させるための溶離液廃棄用通気孔 2 7 4 の蓋に穴をあける。再びモータ 1 1 を回転させ、核酸結合部材 3 0 1 に溶離液を流す（図 1 5）。溶離液は、核酸を核酸結合部材 3 0 1 から溶離する液で、水或いは pH を 7 から 9 に調整した水溶液を用いればよい。特に溶離しやすくするため、4 0 度以上に加温することが望ましい。加温には図 1 の上部光学装置 1 4 を用い、溶離液容器 3 6 0 の上から光を照射すればよい。

溶離液は核酸結合部材 3 0 1 を通過後、溶離液流路 4 5 1 を経て検出容器 4 5 0 に流れ込む。前述の穿孔動作により溶離液廃棄容器 4 7 0 は外部と連通しているので、溶離液は溶離液廃棄流路 4 7 1 を経て溶離液廃棄容器 4 7 0 へ流出する。溶離液廃棄流路 4 7 1 の検出容器 4 5 0 との接続部（半径位置 6 0 7）は溶離液廃棄容器 4 7 0 との接続部（半径位置 6 0 8）より内周側にあるため、サイホン効果により検出容器 4 5 0 内の半径位置 6 0 7 より内周部の溶離液を溶離液廃棄容器 4 7 0 へ排

出する。このようにして、核酸を含んだ溶離液を検出容器 450 内に定量して保持することができる（図 16）。

次にモータ停止の状態、穿孔機 13 で検出液貯蔵容器 370 に空気を供給するための検出液通気孔 271 の蓋に穴をあけ再びモータ 11 を回転させ、検出容器 450 に検出液 571 を流す（図 17）。検出液は、核酸を増幅して検出するための試薬で、デオキシヌクレオシド三リン酸や DNA 合成酵素及び蛍光試薬等を含んでいる。増幅方法に応じて、上部光学装置 14 を用いて、検出容器 450 の上から光を照射して加温してもよい。

次に下部光学装置 15 を検出容器 450 の下に移動させ、例えば蛍光発光量を検出する。

上記穿孔、加温、検出時には保持ディスク 12 を所定の位置に停止させる必要がある。図 19 に示すように、保持ディスク 12 には位置決め用突起 17 を設けてあり、位置検出器 16 で保持ディスクの回転位置を検出し、コントローラ 18 でモータ 11 の回転及び穿孔機 13 の回転及び上下動、上部光学装置 14 及び下部光学装置 15 の回転、照射、検出を制御する。

例えば図 20 に穿孔機 13 の動作タイミングを示す。保持ディスク 12 は、全血或いは各試薬の流動終了後回転数を低下させ、位置決め用の低速回転を維持する。位置検出器 16 が位置決め用突起 17 を検出すると保持ディスク 12 を停止し、穿孔機 13 を下降させ各試薬貯蔵容器の通気孔の蓋に穴をあけた後、再び上昇する。穿孔後保持ディスク 12 は、穿孔終了後の試薬貯蔵容器から試薬が流出しない程度の低速で回転し、次の分析ディスクの位置、すなわち分析ディスクが 6 枚装着されている場合は 60 度回転して停止し、同様の穿孔動作を繰り返す。分析ディスクがどこに装着されているかは、例えば下部光学装置で流路部光学窓 490 から光を照射しその反射光を調べればよい。すべての分析ディスクの穿孔が終了した後、保持ディスクは高速で回転し試薬を流動させる。

本実施例によれば、試料および各試薬の流動を制御するためのバルブ

を流路途中に設ける必要がなく、流路途中でのバルブ部での液残りは発生せず、前工程での試薬による汚染を防止でき、液体試料中の核酸等の特定成分を高純度に抽出でき、高精度に分析できる。

(実施例 2)

上記実施例 1 では、穿孔機により通気孔を開けて試薬の流動を制御していたが、試薬の分注機構を用いてもよい。すなわち図 2 1 に示すように、試薬分注器 1 9 で各試薬ボトル 4 0 0 より所定の試薬を図 3 に示す試薬貯蔵容器に分注した後、分析ディスクを回転し試薬を流動させる。手順を図 2 2 に示す。

本実施例によれば、試料および各試薬の流動を制御するためのバルブを流路途中に設ける必要がなく、流路途中でのバルブ部での液残りは発生せず、前工程での試薬による汚染を防止でき、液体試料中の核酸等の特定成分を高純度に抽出でき、高精度に分析できる。

本発明によれば、試料および各試薬の流動を制御するためのバルブを流路途中に設ける必要がなく、流路途中でのバルブ部での液残りは発生せず、前工程での試薬による汚染を防止でき、液体試料中の核酸等の特定成分を高純度に抽出でき、高精度に分析できる。これにより、遺伝子診断を高精度かつ高効率に行うことができる。

請 求 の 範 囲

1. 回転可能に支持した構造体を備え、該構造体に、試料中の特定の化学物質を捕捉する捕捉部と、前記捕捉部に流過させる液体を保持する複数の試薬容器とを備えた化学分析装置において、

前記特定の化学物質を捕捉部から溶離した後の溶離液を保持する溶離液保持部と該溶離液保持部に連通して前記溶離液の一部を廃棄する溶離液廃棄部を設け、前記溶離液保持部と前記溶離液廃棄部を連通する連通流路と前記溶離液保持部との接続部を前記連通流路と前記溶離液廃棄部との接続部より回転中心側に設けたことを特徴とする化学分析装置。

2. 回転可能に支持した構造体を備え、該構造体に、試料中の特定の化学物質を捕捉する捕捉部と、前記捕捉部に流過させる液体を保持する複数の試薬容器とを備えた化学分析装置において、

前記捕捉部を通過後の溶離液を保持する溶離液保持部は、前記溶離液の一部を流出させるための溶離液流出口と溶離液以外の液を廃棄するための廃棄口を設け、前記溶離液流出口を前記廃棄口より内周側に設けたことを特徴とする化学分析装置。

3. 回転可能に支持した構造体を備え、該構造体に、試料中の特定の化学物質を捕捉する捕捉部と、前記捕捉部に流過させる液体を保持する複数の試薬容器とを備えた化学分析装置において、

前記特定の化学物質を捕捉部から溶離した後の溶離液を保持する溶離液保持部と該溶離液保持部から溶離液以外の液を廃棄する廃液廃棄流路と前記溶離液保持部から溶離液の一部を廃棄する溶離液廃棄流路を設け、前記溶離液保持部と前記溶離液廃棄流路との接続部を前記溶離液廃棄流路の最内周部より外周側に設けたことを特徴とする化学分析装置。

4. 回転可能に支持した構造体を備え、該構造体に、試料中の特定の化学物質を捕捉する捕捉部と、前記捕捉部に流過させる液体を保持する複数の試薬容器とを備えた化学分析装置において、

前記特定の化学物質を捕捉部から溶離した後の溶離液を保持する溶離液保持部と該溶離液保持部に検出用の試薬を供給する検出試薬供給流路を

設け、前記溶離液保持部と前記検出試薬供給流路との接続部を前記溶離液廃棄流路の最内周部より内周側に設けたことを特徴とする化学分析装置。

5. 回転可能に支持した構造体を備え、該構造体に、試料中の特定の化学物質を捕捉する捕捉部と、前記捕捉部に流過させる液体を保持する複数の試薬容器とを備えた化学分析装置において、

前記捕捉部を通過後の試料液と溶離液とを保持する保持部を別々に設け、前記試料液が前記捕捉部を通過後に溶離液保持部の通気孔を開けて、前記溶離液を前記捕捉部に流過させることを特徴とした化学分析装置。

6. 回転可能に支持した構造体を備え、該構造体に、試料中の特定の化学物質を捕捉する捕捉部と、前記捕捉部に流過させる液体を保持する複数の試薬容器とを備えた化学分析装置において、

前記特定の化学物質を前記捕捉部から溶離した後の溶離液を保持する溶離液保持部と、該溶離液保持部に検出用の試薬を供給する検出試薬容器を設け、検出試薬の流動を制御するための検出試薬制御部を、検出試薬を前記溶離液保持部に供給するための検出試薬流出口よりも上流側に設け、前記溶離液保持部から溶離液の一部を廃棄する溶離液廃棄流路を設け、溶離液の一部を前記溶離液廃棄流路から廃棄した後に検出試薬を溶離液保持部内に流動させることを特徴とした化学分析装置。

7. 請求項6において、前記試薬制御部は開放可能な通気孔と開孔機構であることを特徴とする抽出装置。

8. 請求項6において、前記試薬制御部は試薬分注器であることを特徴とする抽出装置。

9. 回転可能に支持した回転構造体を備え、該構造体に、試料中の特定の化学物質を捕捉する捕捉部と、前記捕捉部に流過させる液体を保持する複数の試薬容器とを備えた化学分析装置において、

前記捕捉部を通過後の溶離液を保持する溶離液保持部と該溶離液保持部から溶離液以外の液を廃棄する廃液廃棄流路を設け、

前記溶離液保持部と前記廃液廃棄流路の接続部である廃液廃棄流路入り

口を前記廃液廃棄流路のもう一端である廃液廃棄流路出口より内周側に設け、前記回転構造体の回転中に前記捕捉部を流過した試薬が前記廃液廃棄流路を流動後、前記回転構造体が一度停止後再度回転し、さらに再度停止した後溶離液を前記捕捉部に流過させることを特徴とする化学分析装置。

10. 請求項1～9に記載の化学分析装置を有する遺伝子診断装置。

図 1

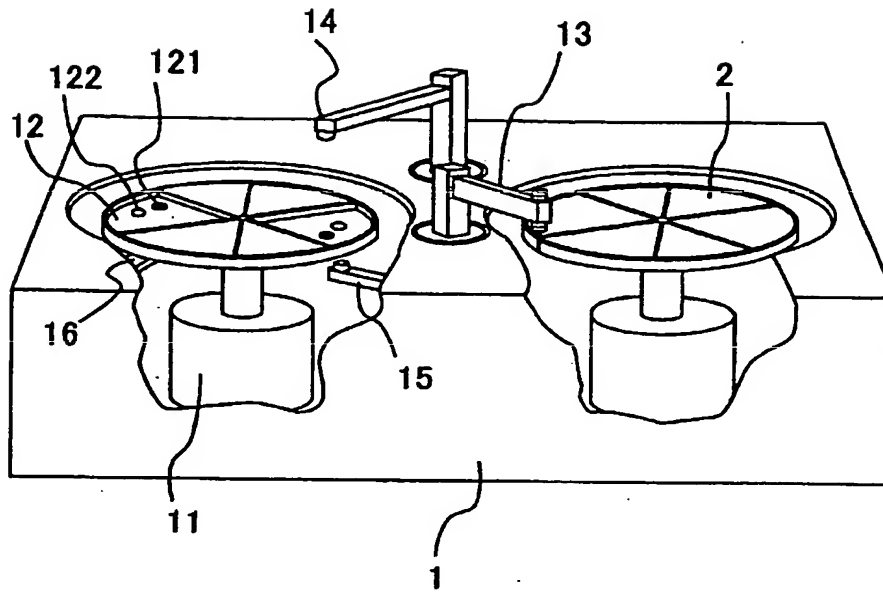


図 2

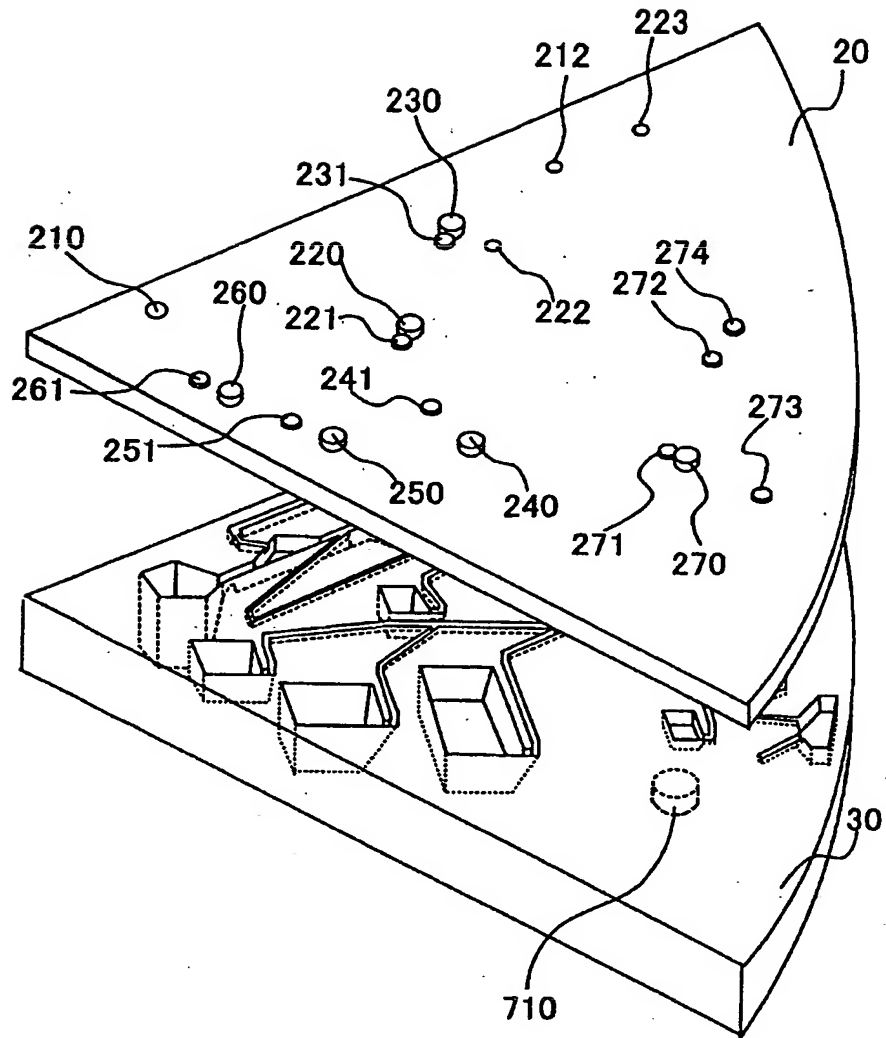


図 3

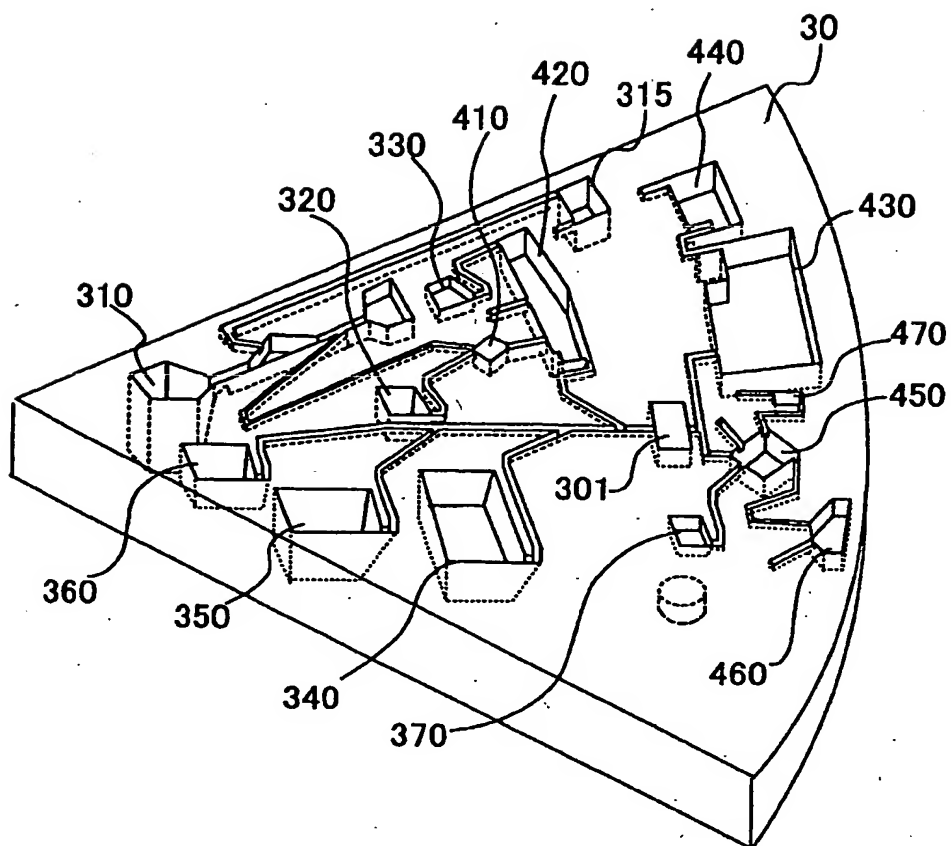


図 4

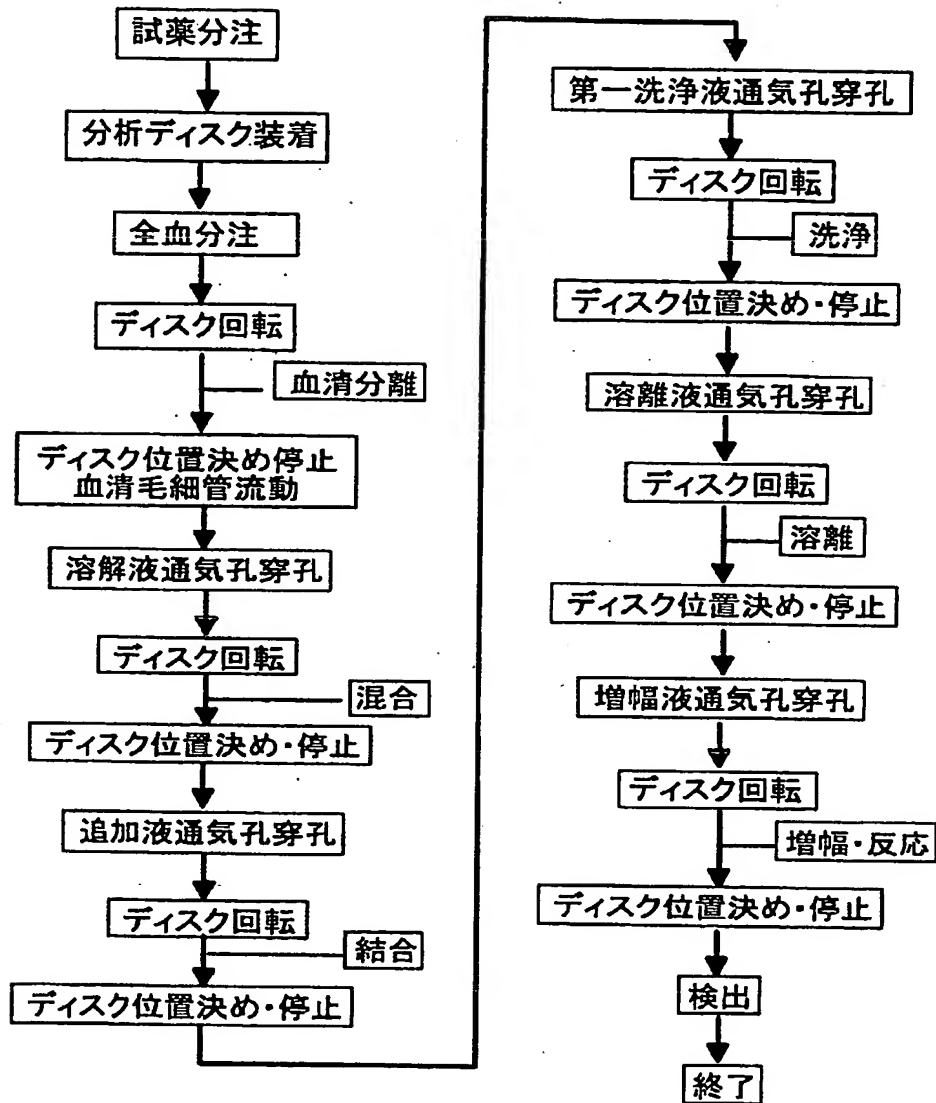


図 5

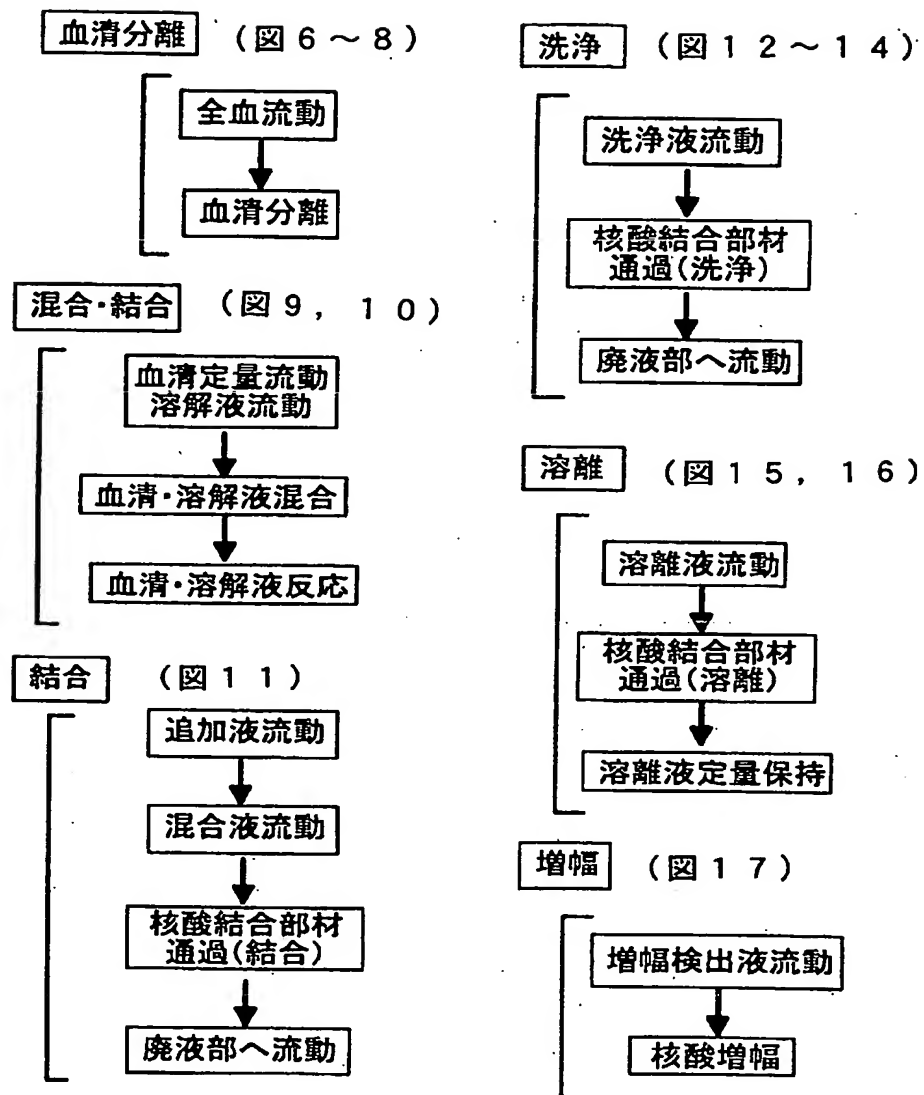


図 6

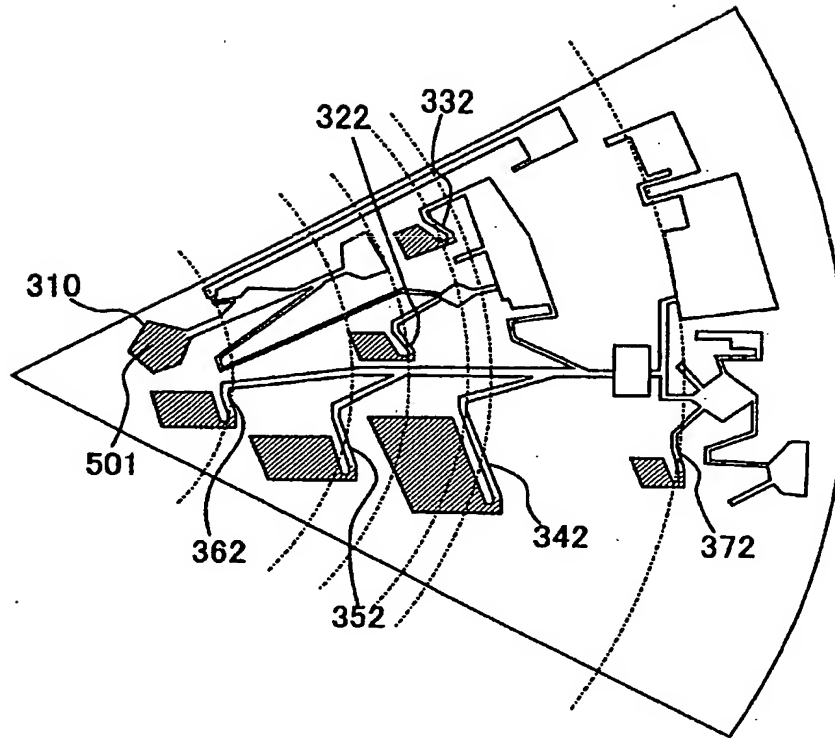


図 7

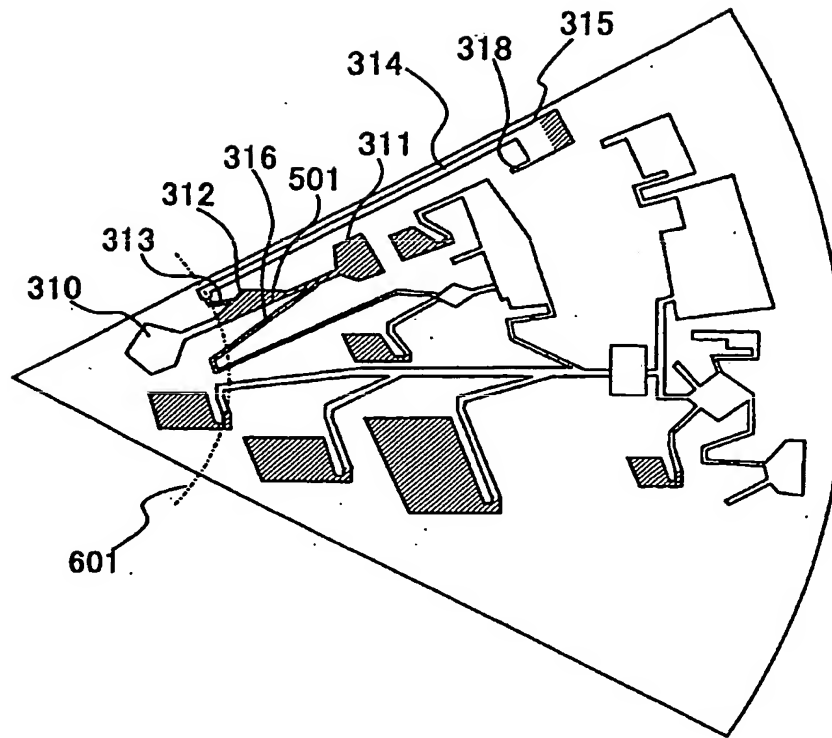


図 8

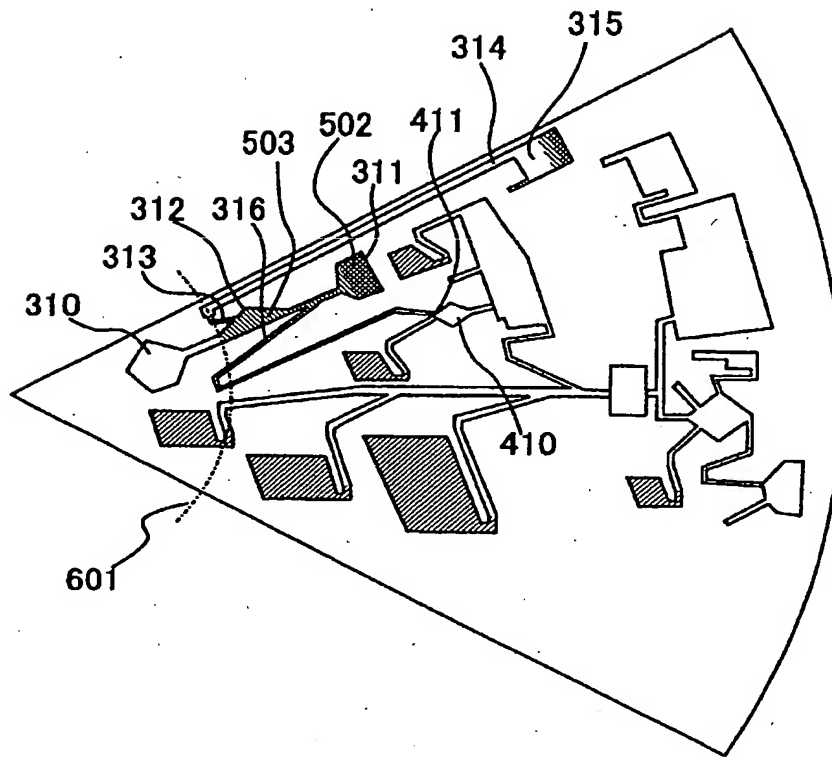


図 9

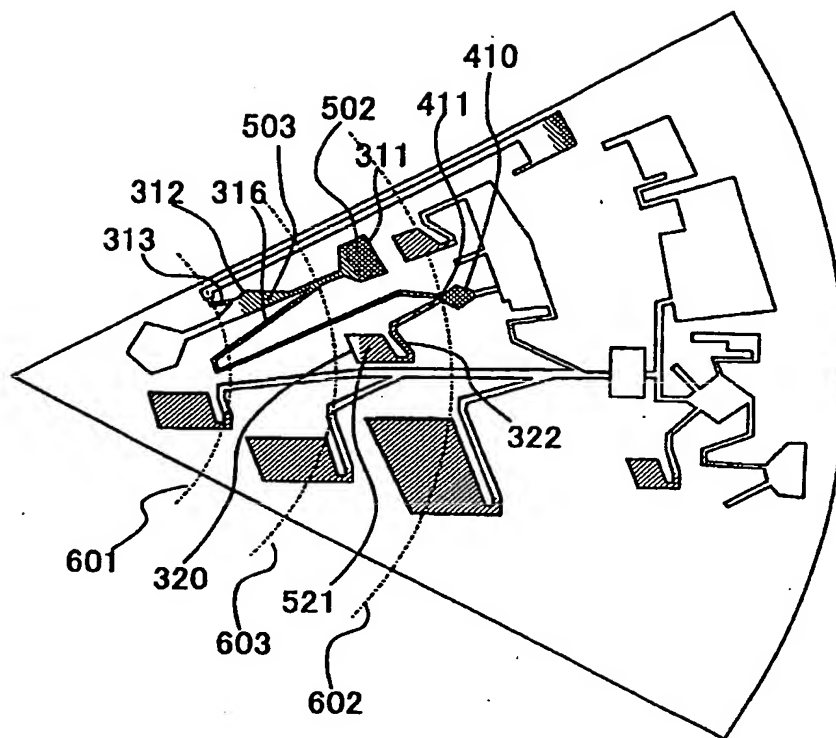


図 10

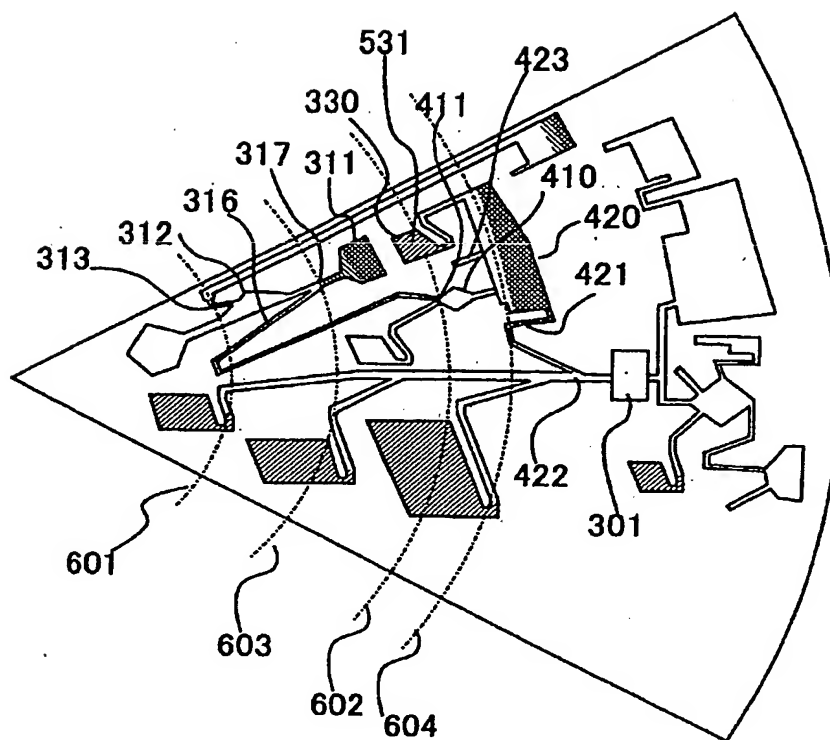


図 11

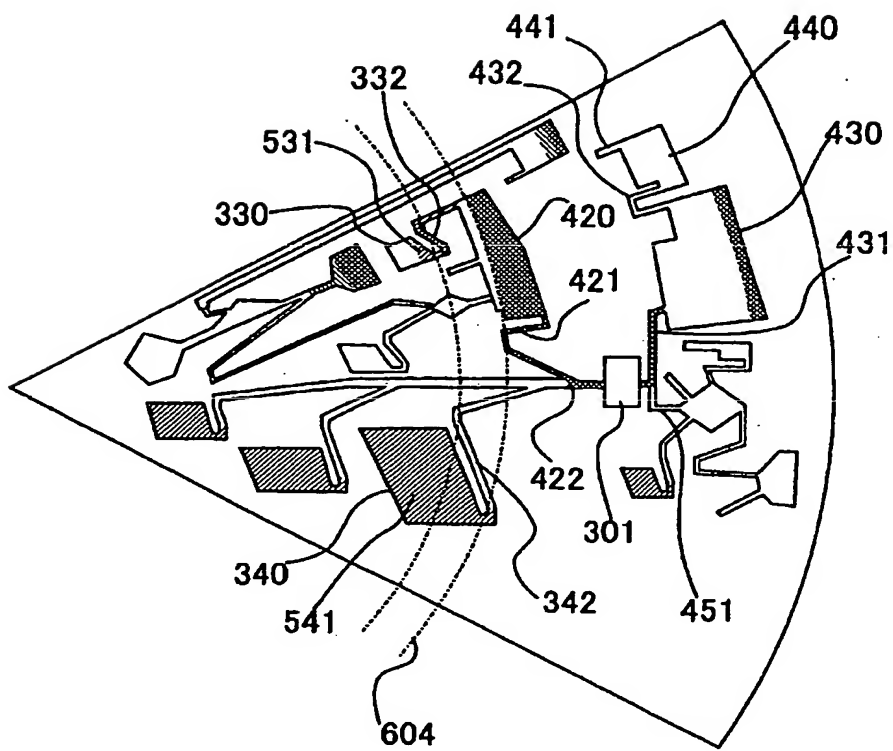


図 12

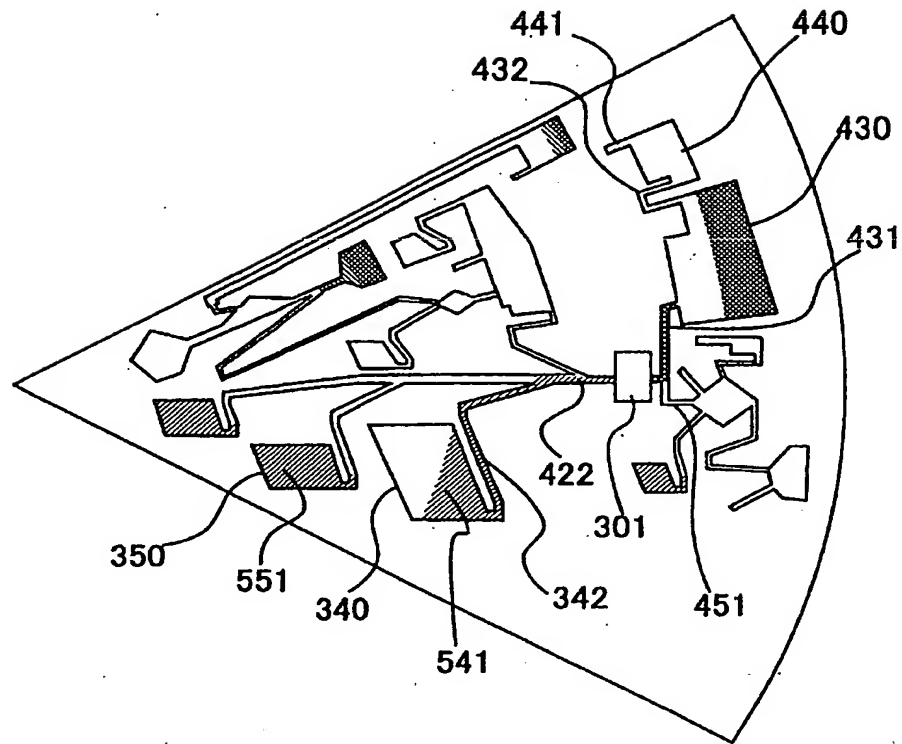


図 13

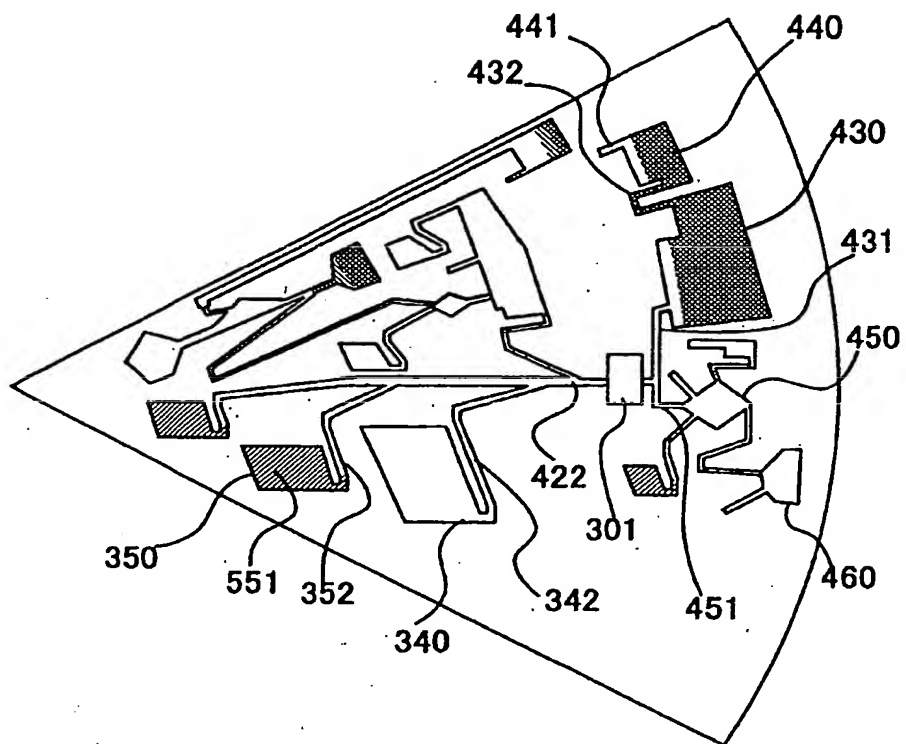


図 14

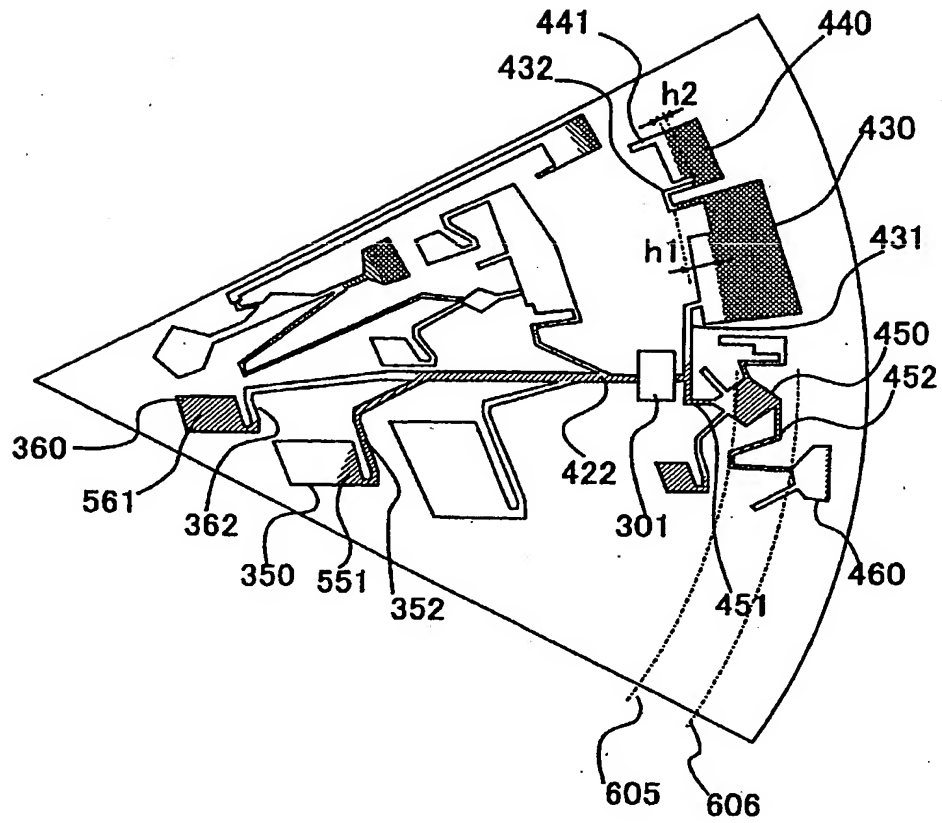


図 15

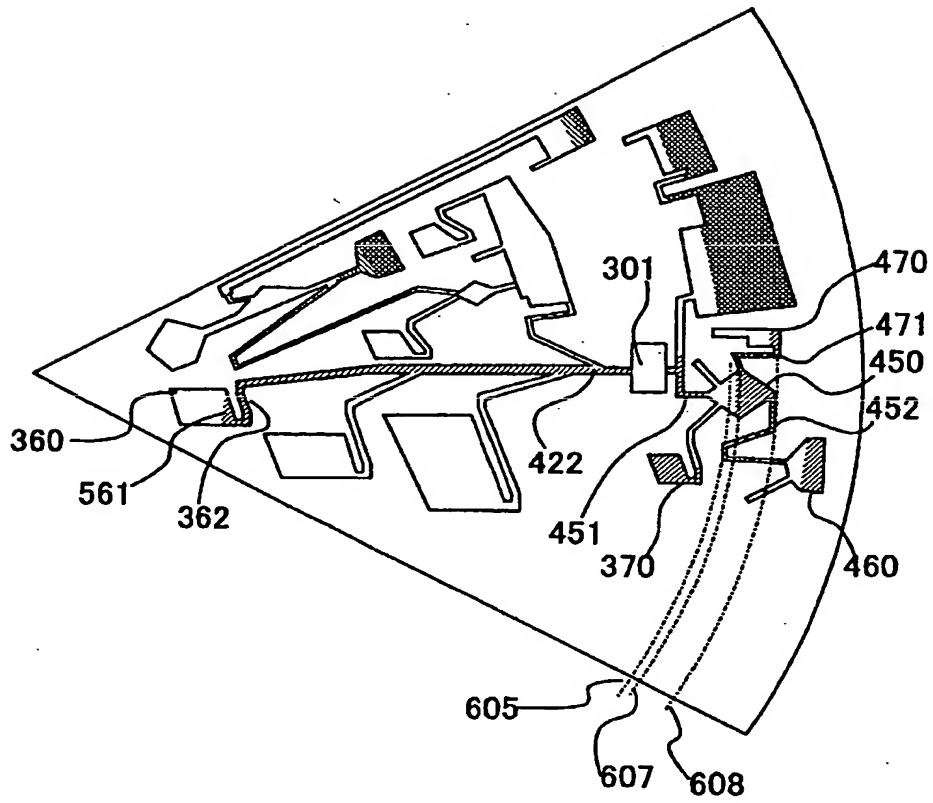


図 16

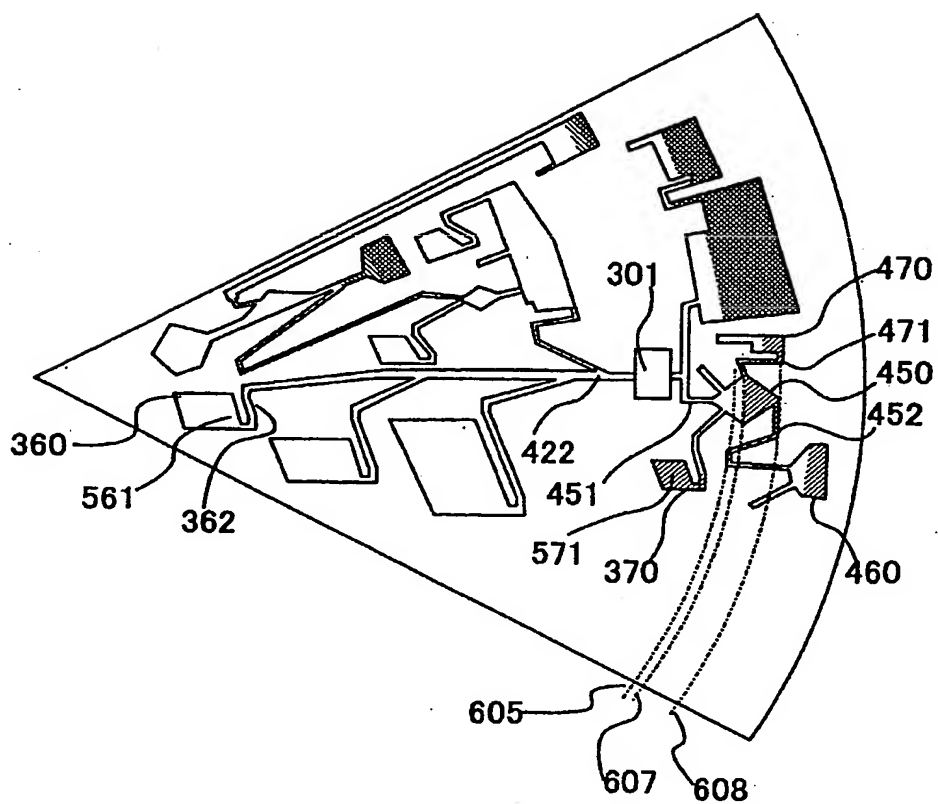


図 17

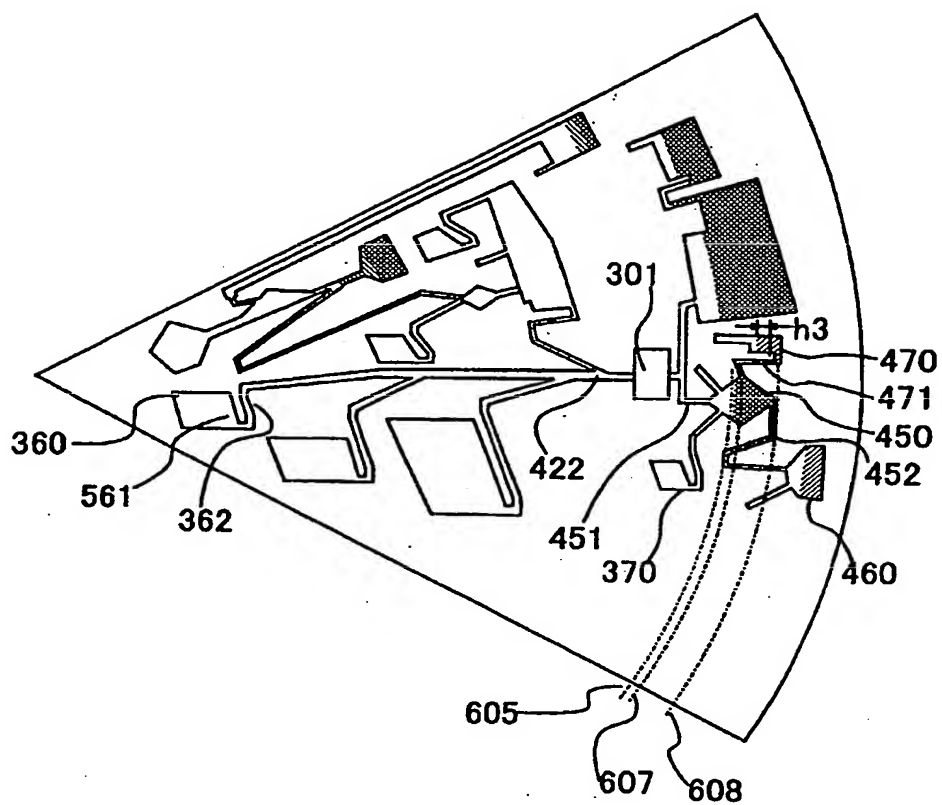


図 18A

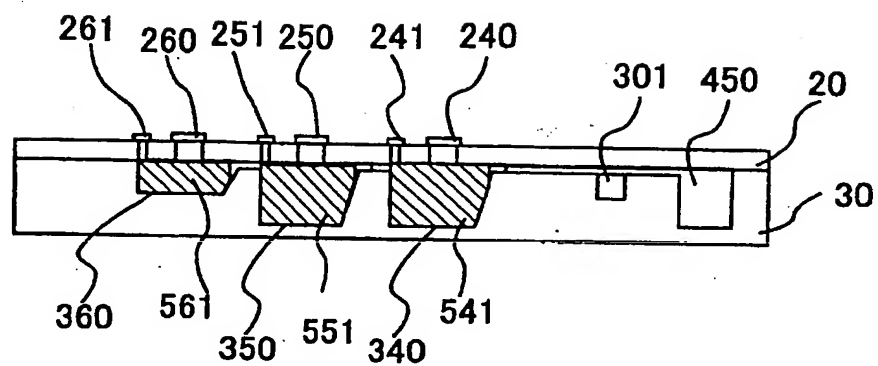


図 18B

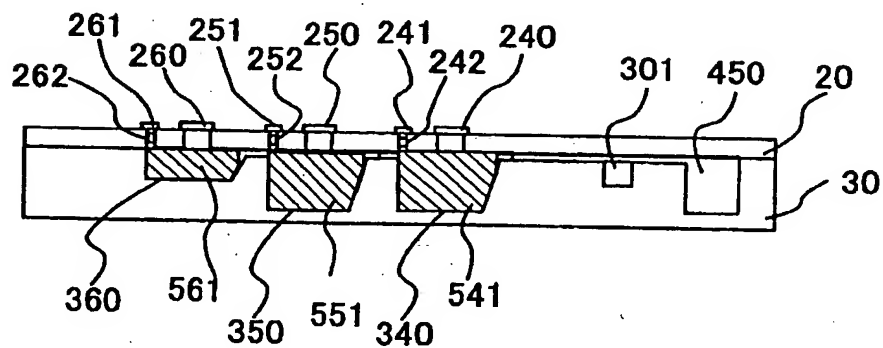


図 19

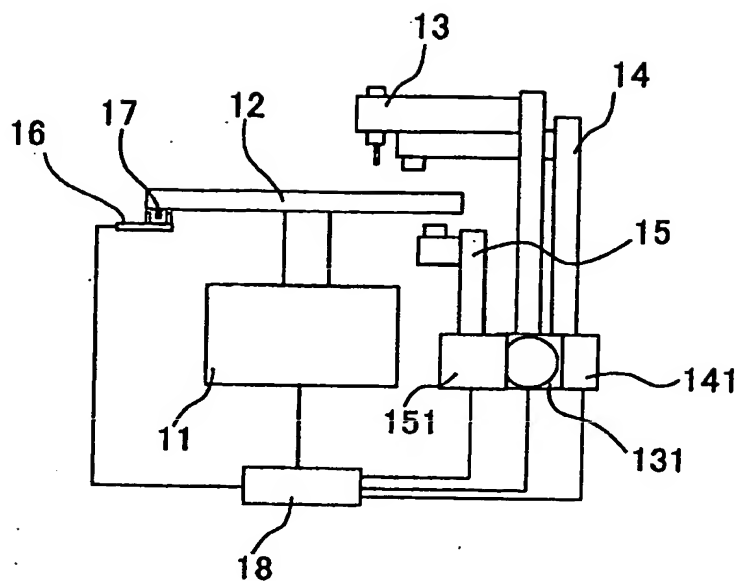


図 20

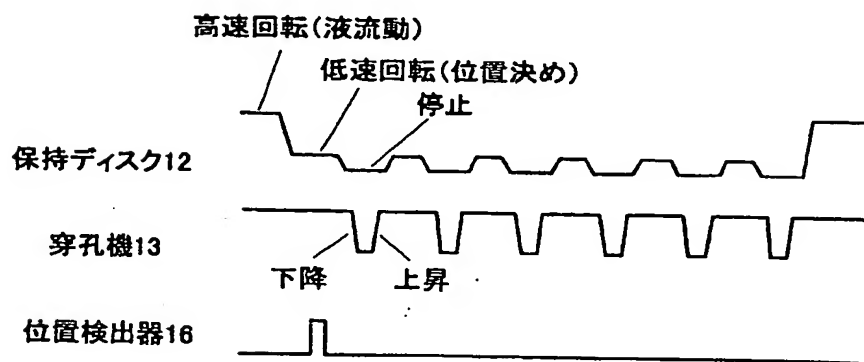


図 21

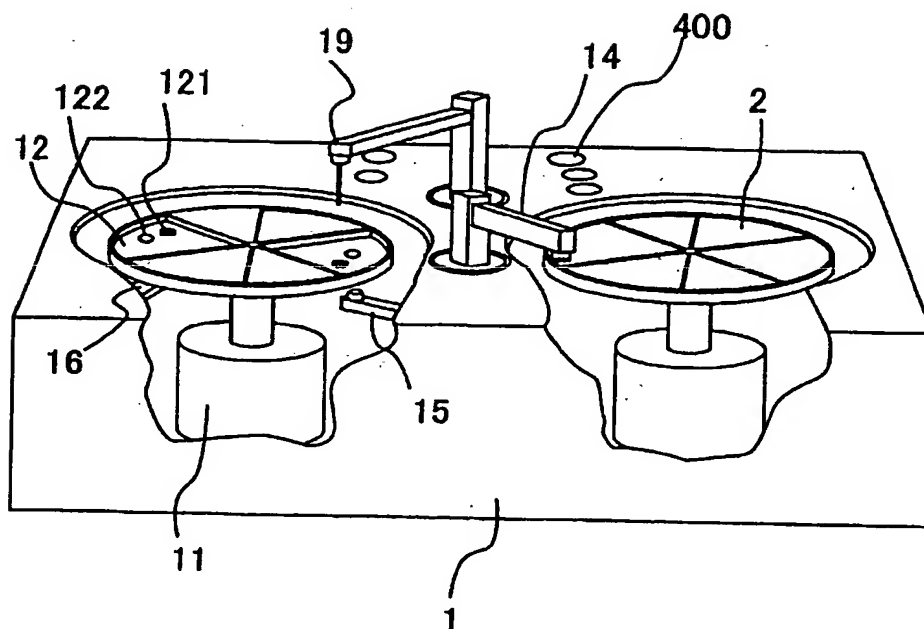
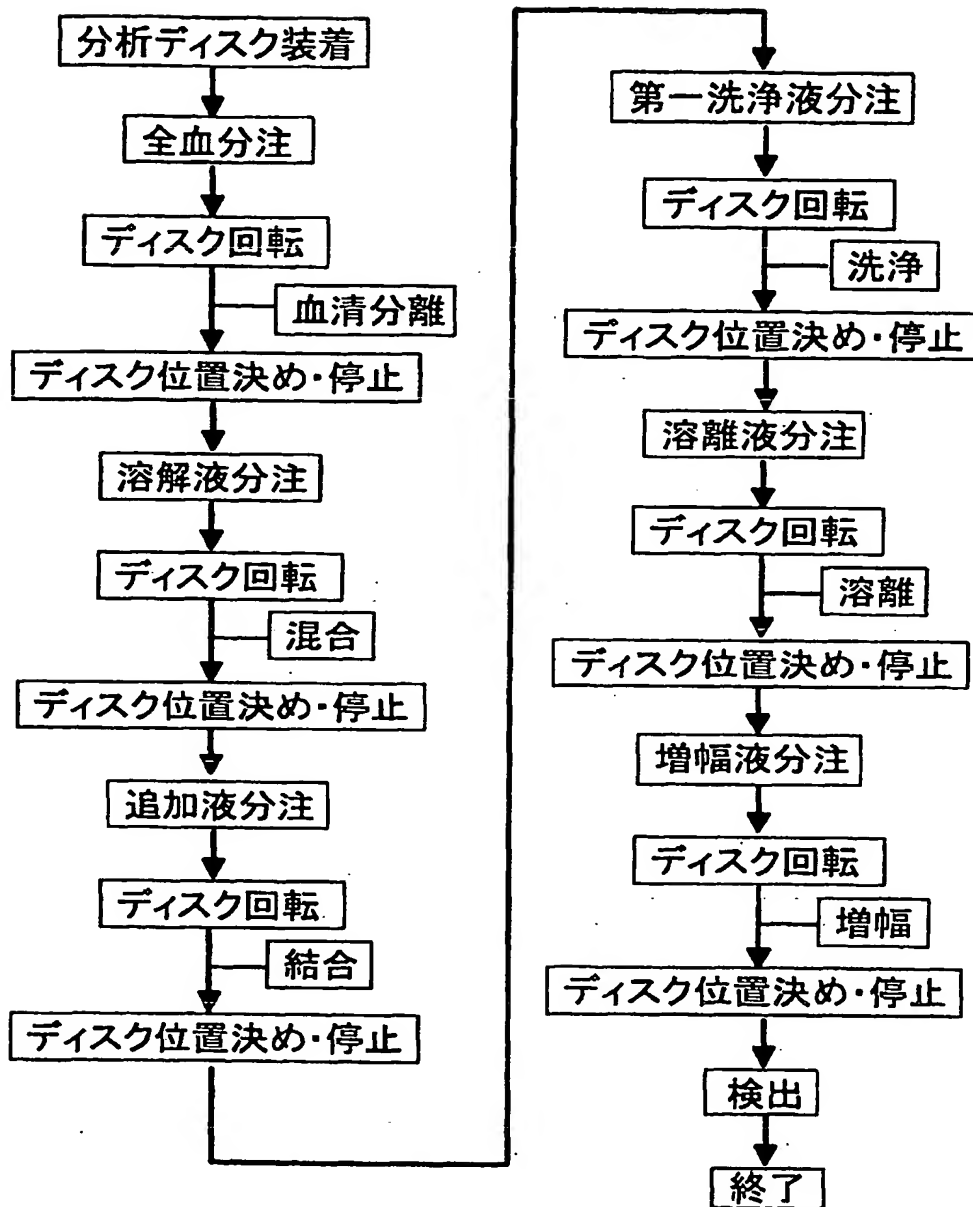


図 22



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/04458

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ G01N30/00, G01N31/20, G01N33/53, G01N33/48, G01N37/00, G01N35/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ G01N30/00, G01N31/20, G01N33/53, G01N33/48, G01N37/00, G01N35/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2002
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2002	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2002

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JOIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2000-514928 A (Gamera Bioscience Corp.), 07 November, 2000 (07.11.00), Full specification & AU 751998 A & WO 98/53311 A & AU 3662199 A & EP 983504 A & US 6063589 A & GB 2354789 A	1-10

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
05 June, 2002 (05.06.02)

Date of mailing of the international search report
18 June, 2002 (18.06.02)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ G01N30/00 G01N31/20 G01N33/53 G01N33/48 G01N37/00 G01N35/02

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ G01N30/00 G01N31/20 G01N33/53 G01N33/48 G01N37/00 G01N35/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年
 日本国公開実用新案公報 1971-2002年
 日本国登録実用新案公報 1994-2002年
 日本国実用新案登録公報 1996-2002年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JOIS

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 2000-514928 A (カメラ バイオサイエンス コーポレイション) 2000.11.07 明細書全体 & AU 751998 A & WO 98/53311 A & AU 3662199 A & EP 983504 A & US 6063589 A & GB 2354789 A	1-10

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

05.06.02

国際調査報告の発送日

18.06.02

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

郡山 順

2 J

8502

電話番号 03-3581-1101 内線 3250

THIS PAGE BLANK (USPTO)